

Egyszerű módszer zöldnövények és szénák karotintartalmának meghatározására

WALGER JÁNOS és THURÁNSZKY ATTILÁNÉ

*Országos Mezőgazdasági Minőségvizsgáló Intézet Takarmány
Osztálya, Budapest*

Hazánkban a zöldtakarmányok tartósítása terén az utóbbi években kiterjedt kísérletek folynak. A takarmányalap növelése érdekében minden lehetőséget ki kell használnunk, és ilyenként elsősorban a már megtermelt zöldtakarmány lehető veszteségmentes tartósítása és tárolása kínálkozik. Minden ilyen irányú eljárás (legyen az a szénakészítés különböző természetes vagy mesterséges módszere, esetleg silózás vagy pépesítés stb.) sikerét talán legjobban az egyik legérzékenyebb komponens, a karotin megmaradásának mértékével lehet jellemezni. Ezért is, de nem kevésbé a karotinnak, illetve az A-vitaminnak az állati és emberi táplálkozásban betöltött fontosszerepe miatt is az érdeklődés mindinkább a karotin felé fordul. Egyre nagyobb számú minta vizsgálata válik így szükségessé, ami sorozat vizsgálatokra is alkalmas egyszerű, gyors és pontos vizsgálati módszer igényét hozza.

A vonatkozó szakirodalom áttekintése során megmutatkozott, hogy a karotin tartalom meghatározására a legkülönbözőbb módszerek használhatóak [pl. 2, 4, 5, 6, 8, 10].

Egy korábbi munkánkban [12] összehasonlítottuk az egyszerűség és gyorsaság szempontjából számbajövő módszereket, és korábbi saját elképzeléseink alapján folytatott kísérleteink szerint is egyrészt NELSON [9], másrészt az AOAC által ajánlott módszert [1] találtuk — kisebb módosítások után — a legmegfelelőbbnek. Ugyanezen véleményt találjuk WIERZCHOWSKI [13] és WIERZCHOWSKI és BASAI [14] közleményében is, akik szintén több módszert hasonlítottak össze. Alkalmazott módszerünk kialakításánál az ő tapasztalataikat is figyelembe vettük.

A módszer leírása

Korábbi munkánkban [12] ismertetett kísérletek alapján a karotin meghatározás alábbi módszerét találtuk legalkalmasabbnak.

1. *Az anyag előkészítése* attól függően, hogy friss, nedvdús zöldanyagból vagy szárított szénából indulunk ki, különböző.

A nedvdús anyagból, pl. lucernából jó átlagot veszünk, és kb. 100 g-ot alkalmas eszközzel, pl. kézi szecskavágóval vagy ollóval a lehető legjobban felaprítunk. Ezt az anyagot ismét átlagoljuk, azaz jól összekeverjük és 2 g-ot 0,01 g pontossággal lemérünk. Az anyagot dörzscsészébe visszük, majd szükség

szerint kb. 5 g kvarchomokkal és szintén szükség szerint kb. 5 g nátriumszulfát siccummal a lehetőséghez képest teljesen eldörzsöljük. A kialakuló keveréknek teljesen száraznak és porszerűnek kell lennie. Ez a halványzöld színű keverék most már könnyen átvihető egy 10 ml-es ún keményítőlombikba. A dörzscsésze falára tapadó részek benzinnel bemoshatóak. A bemosást úgy végezzük, hogy ahhoz kb. 30 ml benzint használjunk fel. A lombikba ezenkívül még 15 ml petrolétert is juttatunk.

Száritott (légszáraz) széna esetén a jó átlagmintát valamilyen alkalmas malomban, illetve darálóban lisztfinomságúra őröljük, majd jó összekeverés után analitikai mérlegen 1 g-ot (ha nagyon alacsony a várható karotin tartalom, akkor esetleg többet) bemérünk, és ezt a már említett 100 ml-es keményítőlombikba visszük, majd 30 ml benzin és 15 ml petroléter keverékével leöntjük.

2. *A kivonás* függetlenül attól, hogy nedvdús vagy légszáraz anyagból indultunk ki, már azonosan történik. A lombikot — felfordítás nélkül — jól összerázzuk, majd kb. 1 m hosszú kondenzáló csövet helyezünk a lombik szájába (ez megfelelő vastagságú cső és gumicső alkalmazása esetén igen könnyen elvégezhető), majd 1 órára 90—95 °C-ú vízfürdőbe helyezzük.

3. *A kromatográfiás elválasztást* a kihülés után azonnal megkezdhetjük. Az 1. ábrán bemutatott berendezés mutatkozott erre a célra a legalkalmasabbnak. A kromatografáló cső aljára Witt-lemezt, majd erre kb. 1 cm vastagságban vattát helyezünk. Ezután csontlisztet töltünk a csőbe úgy, hogy az kb. 8 cm magasságú oszlopot képezzen. Gyenge ütögetéssel biztosítjuk az egyenletes betöltést. Ezután vékony vattaréteget teszünk a csontlisztre, majd kb. 1 cm vastagságban nátriumszulfát siccum-ot. A kromatografáló berendezés elszívó részét biztosítópalack közbeiktatásával a vízlégszivattyúval kötjük össze, megindítjuk a szívást, majd elhelyezzük a felfogásra szolgáló 100 ml-es normál lombikot. 20—50 ml benzinnel átmossuk az oszlopot, ami által egyben a szükséges tömődöttség is beáll. Ezután kiöntjük a mérőlombikból az atmosárhoz használt felesleges benzint, és óvatos dekantálással az oszlopra visszük a „kifőzött” pigment oldatot. 5—10 ml-es kis benzin adagokkal átmossuk a visszamaradó üledéket. Ezt addig ismételjük, míg a felfogó lombikban a sárga, karotin tartalmú oldat közel jellegű. Ekkorra már az oszlopról lecesegető oldat szintelen, tehát gyakorlatilag karotinmentes.

4. *Fotometriásan* történik a karotinoldat koncentrációjának megállapítása. Legjobb e célra olyan objektív fotométer (pl. spektrofotométer), mely 451 millimikron hullámhosszra megfelelő pontossággal beállítható. Ezen a hullámhosszon mért extinkcióból a karotin koncentrációt az alábbi képlettel számíthatjuk:

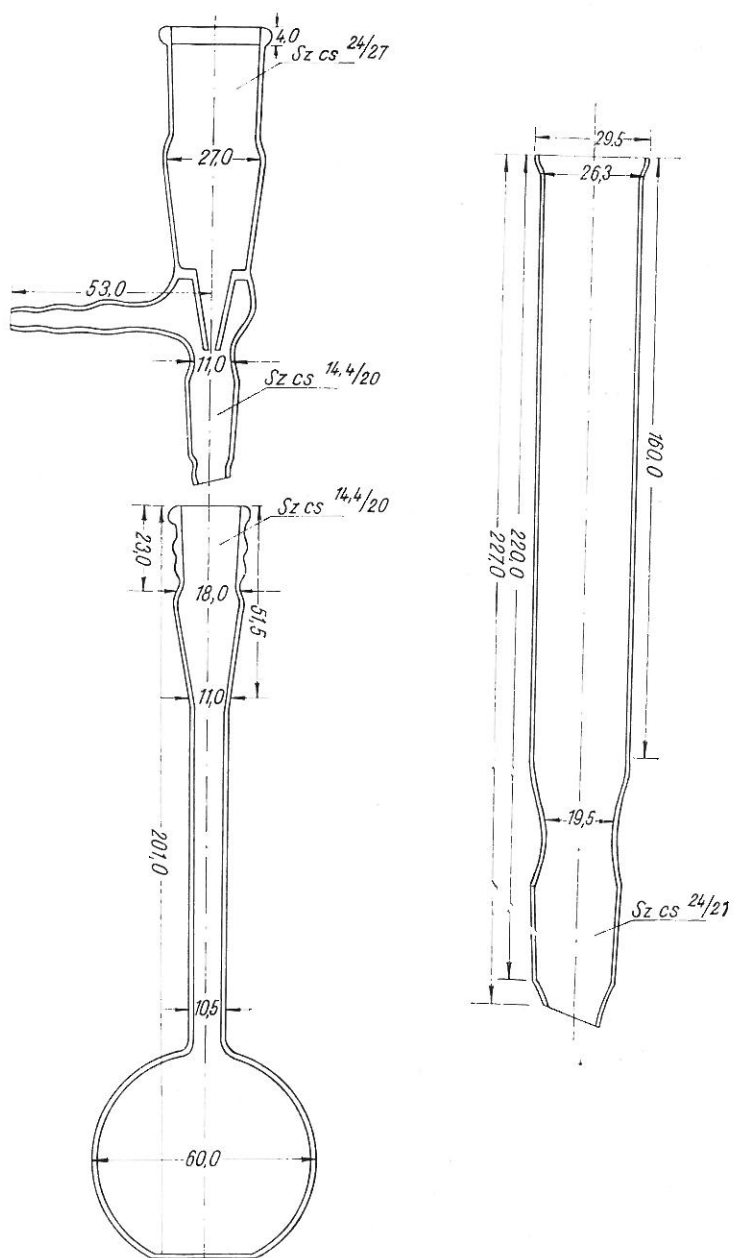
$$\text{karotin mg/100 g} = \frac{e}{m \cdot l} \cdot 39,69$$

ahol e = extinkció

m = bemért anyag mennyisége g-okban

l = rétegvastagság cm-ben.

Szükség esetén más fotométer is használható. Ebben az esetben a szorzófaktor természetesen változik pl. Zeiss-féle stufenfotométerre a szorzófaktor S 47 szűrő használata esetén 41,63. A mérés 0,2—0,8 extinkció határok között végezendő.



1. ábra

A kromatografáló készülék műszaki rajza

Az egész eljárás a karotin fényérzékenysége miatt gyenge szórt fényben végzendő. Erős megvilágítás (napfény, erős műfény) kerülendő.

5. *A szükséges vegyszerek* mind könnyen beszerezhetők és olcsók.

Benzin 80–120 C° fp-ú és peroxidmentes legyen. Gyakorlatilag jól bevált az ÁFOR-telepeken kapható ún. foltbenzin.

Petroléter, 40–60 C° fp-ú, peroxidmentes.

Aceton,

Nátriumszulfát siccum,

Csontliszt (takarmányozási célra előállított),

Kvarchomok, tisztított.

6. *A csontliszt előkészítése* sem okoz különös nehézséget. Nagyméretű, vagy ha ilyen nincs, akkor normál Soxhlet-rendszerű extraháló készülékben a kereskedelemben beszerezhető takarmányozási célra gyártott csontlisztet legalább 8 órán át acetonnal extraháljuk. Az anyagot teljes kiszáritás után ismét legalább 8 órán keresztül petroléterrel extraháljuk, majd teljes kiszáradás után — olyan selyemszítán (molnár szítán), melyen cm²-enként 400 lyuk van — átszítáljuk.

7. *A gyakorlati kivitel* illetően megmutatkozott, hogy egy személy egyszerre két kromatografáló készüléket tud kiszolgálni. Ha minden készülékhez 12–12 felfogó lombik tartozik, akkor szénaliszttel esetén egy nap 24 meghatározást egy személy kényelmesen elvégezhet. Friss, nedvdús anyag esetén természetesen az eldörzsöléshez már segítség szükséges.

Ajánlatos olyan vízfürdő készíttetése, ahol közös tartóban az összes lombik egyszerre elhelyezhető.

A csontliszt előnyeit illetően olcsóságán kívül még ki kell emelni a zöld-növényekben levő egyéb pigmentekkel szemben mutatott nagyfokú szelektivitását. Ezt egyébként NELSON [9] is hangsúlyozza, azt mondván, hogy a csontliszten csupán a biológiai aktív béta-karotin megy át. Mi is összehasonlítottuk a korábban alkalmazott kalciumkarbonáttal és más laboratóriumokban használt alumíniumoxiddal, mégpedig úgy, hogy a csontlisztről lejövő karotinoldatot kalciumkarbonát, illetve alumíniumoxid oszlopon is átszívattuk és megállapítottuk, hogy a csontliszten átmenő pigmentoldatból nem maradt vissza semmi az ellenőrzésre használt két másik adszorbensen, az oldat extinkciója gyakorlatilag az áteresztés előtti értéket adta.

8. *A módszer megbeszélése.* A PETERSON, HUGHES és FREEMAN [11] által módosított GUILBERT féle [3] (a továbbiakban az egyszerűség kedvéért „rég”) módszerrel összehasonlítva az általunk javasolt („új”) módszerrel, elsősorban az a legjelentősebb, hogy míg — mint említettük — az „új” módszerrel napi 24 mintát tud egy személy megvizsgálni, addig a „rég”) módszerrel 12 minta vizsgálata 3 napig tart. Az „új” módszernél egy minta vizsgálatához szükséges vegyszerek költsége a „rég”) egy tized része.

Az „új” módszert 1960 óta sok esetben összehasonlítottuk a „rég”) módszerrel a karotin kinyerés tekintetében. Ezekből 10 adatot szemléltetés érdekében közlünk (1. táblázat).

Azt találtuk, hogy kb. 2 mg % feletti értékek esetén a „rég”) módszerrel 10–15%-kal alacsonyabb értékeket kapunk. 2 mg % alatti karotin mennyiség esetén hol az „új” módszerrel, hol pedig a „rég”) módszerrel kapunk kissé több karotint. Ennek a jelenségnek, valamint annak, hogy a „rég”) és „új”) módszerekkel nyert eredmények közötti különbség változó a maga-

sabb karotin tartalmak esetén (pl. az 1. táblázatban a 4. mintánál 3,4 mg % és a 2. mintánál 0,4 mg %) egyelőre nem tudjuk bizonyított magyarázatát adni.

A reprodukálhatóságot illetően számos paralel vizsgálat azt bizonyítja, hogy mind a „rég” módszer, mind az „új” kielégítő pontossággal reprodukálható. Maximális eltérésként mindkettőnél 1 mg %-ot találtunk. Az átlagos eltérés 0,5 mg % körül van, amit elfogadhatónak tartunk.

Kísérleteket végeztünk annak megállapítására is, hogy a javasolt módszer alkalmas-e keveréktakarmányok karotintartalmának meghatározására. Két baromfitíp minta karotintartalmát vizsgáltuk, melyek 5, illetve 7%-ban tartalmaztak ismert karotintartalmú szénaliszttet. A bemérés mennyisége — a várható alacsony karotintartalom miatt — 10 g volt. A meghatározás eredményét a bekevert szénalisztt karotintartalmának meghatározásával ellenőriztük. Rebizonyosodott, hogy a módszer szénaliszttel kevert keveréktakarmányok karotintartalmának meghatározására is alkalmas. Megjegyzendő azonban, hogy a keveréktakarmányok nagyobb zsírtartalma miatt az oszlopon az egyéb pigmentek frontja gyorsabban száll lefelé, és így míg szénából 15—20 meghatározás is végezhető egy oszlopon cserélés nélkül, addig keveréktakarmányokból — természetesen azok zsírtartalmától függően — sokkal kevesebb.

1. táblázat

Szénalisztek karotintartalma „rég” és „új” módszerrel meghatározva. A számadatok (mg %) paralel meghatározások átlagai a 95%-os megbízhatósági határokkal

(1) Minta száma	(2) Rég módszer	(3) Új módszer
1	18,8	20,2
2	17,8	18,2
3	15,1	16,7
4	14,5	17,9
5	4,7	6,7
6	3,3	4,9
7	2,5	3,9
8	1,8	1,6
9	1,4	1,3
10	1,1	1,4

2. táblázat

48 órás hideg és 1 órás forralásos kivonás összehasonlítása. A számadatok (mg %) paralel meghatározások átlagai a 95%-os megbízhatósági határokkal

(1) Minta száma	(2) Hidegen	(3) Forralva	(4) A forralás javára mutatkozik
1	13,9	16,1	2,2
2	14,1	16,3	2,2
3	12,7	15,1	2,4
4	15,4	16,7	1,3
5	21,8	24,7	2,9
6	5,1	5,8	0,7
7	6,8	7,7	0,9
8	6,2	7,1	1,8
9	15,0	17,0	2,0
10	22,6	23,0	0,8

Szükségesnek mutatkozik még a számítás ajánlott módszerének megvitatása is. A karotin koncentráció mérésére különböző rendszerű készülékek alkalmasak, melyeken a mérés hullámhossza vagy pontosan beállítható (pl. spektrofotométerek), vagy csak egy bizonyos hullámhossz (pontosabban hullámhossztartomány) állítható be (pl. színszűrőkkel működő fotométerek). Harmadik lehetőség az összehasonlító oldatokkal működő koloriméterek alkalmazása (pl. Lange—Roth és Duboscq féle koloriméterek), mely esetben állandó összehasonlító oldatsorozatra van szükség. A koloriméterek alkalmazását karotin meghatározásra lényegében el kell vetnünk, mert egyrészt karotin-

standard oldat készítése, a tiszta karotin beszerzési nehézségei és az oldás és mérés kényes természete miatt gyakorlatilag nem jöhet számításba, másrészt egyéb állandó és könnyen hozzáférhető összehasonlító oldatok (pl. káliumbikromát) alkalmazását a mértékadónak elfogadható szerzők a leghatározottabban elutasítják, használhatatlannak minősítik [pl. 9.].

Miután a béta-karotin mérésére legalkalmasabb adszorpciós maximum a 451 millimikron hullámhossznál van, mérésre egyéb előnyük mellett a legjobban az objektív spektrofotométerek váltak be. Mivel pedig ezen készülékek jól juszírozhatók, a szakirodalomban megadott béta-karotin moláris extinkciós koefficiens minden további nélkül alkalmazható. Ilyen megfontolások alapján alkalmaztuk LÁNG könyvében [7] található moláris extinkciós koefficiens. Ezen érték felhasználását egyébként Cholnoky is ajánlotta (személyes közlés). A képletben ajánlott szorzófaktort tehát LÁNG adata alapján számítottuk. LÁNG adatát egyébként Merck originál beta-karotin készítménnyel ellenőriztük, és gyakorlatilag azonos eredményre jutottunk.

A spektrofotométeren kívül a gyakorlatban legelterjedtebb a Pulfrich-féle fotométer. Az S 45-ös szűrő — mely tulajdonképpen a mérésekhez legalkalmasabb volna — igen ritka. A szokvány felszereléshez rendszerint csak S 47-es szűrő tartozik, azért csak erre vonatkozó adatokat közlünk. Mint már említettük, állandó összehasonlító oldat készítése gyakorlatilag nem lehetséges, sőt legtöbb esetben az egyszeri kalibrálás is nehézségekbe ütközik. Egyszerűbbnek mutatkozik a szűrő maximális áteresztő képességének ellenőrzése és ismét a szakirodalomban található szorzófaktor felhasználása. A szakirodalom, valamint tapasztalatunk szerint mind a belföldi, mind a külföldi laboratóriumokban a Pulfrich-féle fotométereknél alkalmazott karotin faktorokban eltérések mutatkoznak.

Cholnoky által kéziratban megadott S 47 (Pulfrich) színszűrőre és benzinen oldott karotinra vonatkozó adatokat alapul véve számítottuk ki az általunk ajánlott szorzófaktort, mely 0,2—0,8 extinkció határok között érvényes. Meg kell jegyezni, hogy bár az extinkció és koncentráció közötti összefüggés nem szigorúan lineáris, mégis nem követünk el nagy hibát, ha görbén való leolvasás helyett szorzófaktort alkalmazunk, mert az ebből eredő hiba nagyságrenddel kisebb, mint a meghatározási módszer többi hibalehetősége. Ellenőrzésül összehasonlító méréseket végeztünk Unicam SP 500-as spektrofotométer és Zeiss gyártmányú Pulfrich-féle fotométer között és S 47 szűrő használata esetén az eredmények kielégítő egyezését találtuk.

A már említett különböző szorzófaktorok használata miatt az egységes és összehasonlításra alkalmas munka érdekében tehát takarmányozási célra használt zöldnövények és szénák béta-karotin tartalmának mérésére, az említett készülék-ellenőrzést feltételezve, jelen dolgozatunkban közölt szorzófaktorok használatát javasoljuk.

Meg kell még emlékeznünk NELSON [9] által ajánlott 48 órás hidegáztatásról, mely úgy véli, hogy „egyenértékűen alkalmazható a főzéssel”. 10 különböző szénamintán összehasonlító kísérleteket végeztünk és úgy találtuk (2. táblázat), hogy közel 1 mg %-kal, de gyakrabban ennél több, sokszor 2—3 mg %-kal magasabb karotinértékeket kapunk főzéssel. Így tehát a hidegáztatásos eljárást helykímélés érdekében részletesen nem is ismertetjük.

További kísérletek

Módszertani vizsgálataink során — néhány kapcsolódó kérdés tisztázását is célul tűztük ki. Így elsősorban a széna és szénaliszt minták kezelésével kapcsolatos tényezők hatását vizsgáltuk.

A szénaminták nedvességtartalma rendszerint nagyobb annál, hogy azt kalapácsos malomban könnyen és jól meg lehetne őrölni. Így az eredeti mintákat őrlés előtt legtöbbször még szárítani kell. Kérdés, hogy a szárítás különböző módjai befolyásolják-e, és ha igen, miként, az eredeti minták karotin tartalmát, hiszen a vizsgálat során a karotintartalom változást mindenképpen el kell kerülni. Intézetünkben a nagy terjedelmű minták szárítására két lehetőség van, infravörös sugárzó lámpák és elektromos, valamint gázüzemű szárítók állnak rendelkezésre. Így szükségesnek látszott az infravörös sugárzás és a hő hatásának vizsgálata.

1. Infravörös sugárzás hatása a szénaliszt karotin tartalmára

10 cm Ø nyitott Petri-csészékbe háromszoros ismétlésben infravörös időtartam sugárzási kísérletet állítottunk be. Egy-egy Petri-csészébe 2,5 g lucernaszéna lisztet tettünk úgy, hogy az egyenletes rétegben borította a csésze alját. A sugárzó lámpák egyenként 250 W teljesítményűek voltak, és távolságuk a besugárzott anyagtól 40 cm volt. Az eredményeket a 3. táblázat mutatja be.

3. táblázat

Különböző időtartamú infravörös sugárzás hatása a szénaliszt karotintartalmára (mg/100 g karotin)

(1) Minta száma	0	5	15	30	1	2	4	8	12	16	32	64
	perc (2)				óra (3)							
1	14,9	14,7	14,8	14,4	13,2	11,0	11,1	8,7	8,4	8,8	6,0	2,0
2	14,7	14,7	14,0	13,2	12,5	—	9,1	8,6	8,6	7,6	5,0	2,1
3	15,1	15,0	14,6	13,2	12,5	9,9	10,0	9,2	8,8	8,4	4,3	3,3
Átlag	14,9	14,8	14,5	13,6	12,7	10,5	10,1	8,8	8,6	8,3	5,1	2,5
%	100	99,3	97,3	91,2	85,2	70,5	67,8	59,0	57,7	57,7	34,2	16,8

Amint az eredményekből látható, 120 percig a karotin tartalom rohamosan csökken. Innen a 3840. percig a csökkenés mértéke már lassul. A 120. percnél jelentkező inflexiós pont nagyon határozott és feltűnő. Magyarázni próbálván a jelenséget, arra gondoltunk, hogy esetleg a rohamos bomlás csupán a felszínen folyik, a fedésben levő szénarészecskékben a karotinbomlás üteme lassú. Miután a felületen levő összes karotin már destruálódott (inflexió előtti szakasz) a bomlás mértéke egyszerre sokkal mérsékeltebb irányzatúvá válik (inflexió utáni szakasz). Elgondolásunkat az a megfigyelés is igazolni látszik, hogy a kb. 2 mm-es szénaliszt réteg felülete barnás volt, míg az alatta levő rész zöld maradt.

Feltételezésünk igazolására újabb kísérletet állítottunk be, melynél a kísérleti feltételeket annyiban módosítottuk, hogy 15 percenként megkevertük a szénalisztet. A megfigyelési időpontok változtatására részben technikai okból volt szükség (a keverés megoldása), másrészt az előző kísérlethez hasonló rövid és hosszú időkre nem mutatkozott szükség. Az eredményeket a 4. táblázat mutatja be.

4. táblázat

Különböző időtartamú infravörös sugárzás hatása a szénaliszt karotintartalmára 15 percenkénti keverés esetén (mg/100 g karotin)

(1) Minta szama	0	1	2	3	4	5	6	7	8
	óra (2)								
1	12,2	9,8	8,9	6,3	7,4	—	6,5	6,0	5,6
2	12,0	9,7	8,7	7,7	6,2	6,5	5,7	5,6	5,5
Átlag	12,1	9,8	8,8	7,0	6,8	6,5	6,1	5,8	5,6
%	100	81,0	72,7	57,9	56,2	53,7	50,4	47,9	46,3

Az adatok csak részben igazolták feltevésünket. A kezdeti időben a rohamos csökkenés megmaradt, bár nem egészen olyan mértékben, mint az előző kísérletnél. Az inflexiós pont itt is jelentkezett, de kissé később (a 180. percenél). A további besugárzás hatására a karotinbomlás mérsékeltebb ütemű volt, de nem annyira mint az előző (nem kevert) kísérletnél. Végeredményben azonban itt is a karotinbomlásban két szakasz ismerhető fel, melyeket egy inflexiós pont választ el egymástól. E jelenség közelebbi vizsgálatát későbbi feladatunknak tekintjük. Gyakorlati szempontból itt is csak azt a következtetést tesszük, hogy már 5—10 perces infravörös sugárzólámpákkal való szárítás is észrevehető csökkenést okoz a karotintartalomban. 30 perces szárítás már közel 10%-os veszteséggel jár, így tehát karotin vizsgálatra szánt anyagot infra-száritóban nem tanácsos szárítani.

2. Hő hatása a szénaliszt karotin tartalmára

Hasonló okból mint az infravörös sugárzás esetén, a villanyszárítószekrény különböző fokú hőhatását is vizsgálat tárgyává tettük a karotin destrukció tekintetében.

Elektromos szárítószekrényben bemérőedényekben helyeztük el a szénaliszt mintákat. Első kísérletünknel a hőmérsékletet változtattuk és a behatás idejét tartottuk állandóan 8 órának. Az eredményeket az 5. táblázat mutatja.

Amint az adatokból jól kitűnik, már az 50 C° hőmérséklet is okoz észrevehető csökkenést. A 70 C°-ú hőmérséklet még nem jelent nagy változást az előzőhöz képest, ezzel szemben a 90 C° hőmérséklet már jelentősen károsít. 110 C° esetén a karotinnak mintegy fele tönkremegy, míg 124 C°-on szinte teljes a destrukció.

A következőkben a 90 C° hőmérséklet különböző idejű hatását vizsgáltuk. Eredményeinket a 6. táblázatban közöljük.

5. táblázat

Nyolc órán át tartó különböző hőmérséklet hatása a szénalisztt
karotintartalmára (mg/100 g karotin)

(1) Minta száma	20	50	70	90	110	124
	C°					
1	11,0	10,5	9,7	7,9	5,3	1,2
2	10,7	11,0	10,3	8,7	6,0	1,1
Átlag	10,9	10,8	10,0	8,3	5,6	1,2
%	100	99,1	91,7	76,1	51,4	11,0

Az eredmények azt mutatják, hogy egy óra hosszat tartó 90 C° hőmérsékletnek még nincs észrevehető romboló hatása. A karotinnak mintegy 50%-a 12 óra alatt bomlik el 90 C°-nál. 64 óra alatt gyakorlatilag a szénalisztt teljes karotin mennyisége megsemmisül.

6. táblázat

90 C° hőmérséklet hatása a szénalisztt karotintartalmára az idő függvényében
(mg/100 g karotin)

(1) Minta száma	0	5	15	30	1	2	4	8	12	16	32	64
	perc (2)				óra (3)							
1	13,9	13,3	13,6	13,8	13,2	12,6	11,1	9,0	6,9	5,1	3,2	0,6
2	13,7	13,5	13,2	13,5	13,7	13,2	11,5	8,3	7,2	5,1	2,8	0,7
3	13,3	13,4	13,7	13,6	13,4	12,6	11,2	8,6	7,2	5,4	3,0	0,7
Átlag	13,6	13,4	13,5	13,6	13,4	12,8	11,3	8,6	7,1	5,2	3,0	0,7
%	100,0	98,2	99,3	100,0	98,2	94,1	83,1	63,2	52,2	38,2	22,1	5,2

Egy újabb sorozatban a 70 C° hőmérséklet hatását vizsgáltuk. Ezt a hőmérsékletet azért választottuk, mert az infravörös sugárzó lámpák alatt ezt a hőmérsékletet mértük és látni akartuk, hogy abban a kísérletben tapasztalt karotin bomlásért mennyiben tehető a fény és mennyiben a hő felelőssé. Az eredményeket a 7. táblázat tartalmazza.

7. táblázat

70 C° hőmérséklet hatása a szénalisztt karotintartalmára az idő függvényében
(mg/100 g karotin)

(1) Minta száma	0	1	2	4	8	16	32
	ó r a (2)						
1	12,2	11,9	12,1	11,8	10,4	10,5	9,5
2	12,0	12,1	11,7	11,8	10,7	10,4	10,3
Átlag	12,1	12,0	11,9	11,8	10,6	10,5	9,9
%	100	99,1	98,3	97,5	87,6	86,7	81,8

Amint az előzőekből várható is volt, a négy órás hatás itt sem okoz még lényeges veszteséget és 32 óra elteltével is csak kb. 20% veszteség mutatkozik. Összehasonlítva a 3. táblázat adataival, feltűnően mutatkozik meg az, hogy a hőhatásnak az infrásugárzás esetén csak elenyésző szerepe van a karotinbomlás terén. Ez különösen az első négy órában feltűnő, amikor a pusztán hőhatás alig okoz változást, míg az infravörös sugárzás hatására ebben az első időszakban mutatkozik a legfeltűnőbb gyors esés.

Ehelyütt is köszönetet mondunk Cholnoky László professzor úrnak, valamint Vitai Istvánné és Fördögh László munkatársainknak készséges segítségükért és értékes tanácsaikért.

Összefoglalás

Az utóbbi években mind sürgetőbben lépett fel az igény egy gyors, pontos, de egyszerű, sorozatvizsgálatokra is alkalmas karotin vizsgálati módszer iránt. Felhasználva a szakirodalmat és saját tapasztalatainkat az alábbi módszert ajánljuk.

Benzin és petroléter elegye a finomra őrölt szénalisztből, illetve a nátrium-szulfáttal és kvarchomokkal dörzsölt zöld növényi részekből 90–95 °C-ú vízfürdőn gyakorlatilag kioldja egyéb pigmentekkel együtt a béta-karotint is. Megfelelően előkészített csontliszt kromatografáló oszlop az egyéb pigmenteket visszatartja, míg a biológiailag aktív béta-karotint átengedi, melynek mennyisége ezután fotometriásan meghatározható.

Érkezett: 1962. június 15.

Irodalom

- [1] A. O. A. C., Analytical Methods Committee: The Determination of Carotene in Green-Leaf Material. *Analyst.* **77.** 171–173. 1952.
- [2] BOOTH, V. H.: Carotene. Heffer & Sons, Cambridge. 1957.
- [3] GUILBERT, H. R.: Determination of Carotene as a Means of Estimating the Vitamin-A Value of Forage. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **6.** 452. 1934.
- [4] INCZÉDY, A. & DEMEL, E.: Karotin meghatározás élelmiszerekben. *Élelmészeti Ipar.* **10.** 221–225. 1956.
- [5] KLIMES, I.: Rychlá metoda pro seriová stanovení karotenů v zelených i siláfovaných píceinách, seně a zelenině. *Vedecké Práce* **2.** 145–170. 1957.
- [6] KLIMES, I.: Die Verlustvermeidung an Karotin bei der chromatographischen Isolation auf dem Aluminiumoxyd. *Sborník Ces. Akad. Zem.* **3.** 693–706. 1958.
- [7] LÁNG, L.: Absorption Spectra in the Ultraviolet and Visible Region. *Akadémiai Kiadó.* Budapest. 1959.
- [8] MOORE, L. A. & RAY ELY: Extraction of Carotene from Plant Material. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **13.** 600–601. 1941.
- [9] NELSON, W. A. G.: The Determination of Carotene in Dried Grass. *Analyst.* **72.** 200–205. 1947.
- [10] PETERSON, W. J.: Recent Developments in Methods for Determining Carotene. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **13.** 212–216. 1941.
- [11] PETERSON, W. J., HUGHES, J. W. & FREEMAN, H. F.: Determination of Carotene in Forage. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **9.** 71. 1937.
- [12] WALGER, J., VITAI, I. & THURÁNSZKY, A. NÉ: Adatok a karotinvizsgálati módszerek kritikai értékeléséhez. *OMMI évkönyve.* **5.** 241–252. 1961.
- [13] WIERZCHOWSKI, Z.: The Influence of the Temperature of the Oxygen and of the Light on the Carotene Contents of Green Forages During their Drying. *Roczniki Nauk Rolniczych* **69.** Ser. B. 163–194. 1955.
- [14] WIERZCHOWSKI, Z. & BASAI, J.: A széna értékelési módszere karotintartalma alapján. *Roczniki Nauk Rolniczych.* **73.** Ser. B. 459–476. 1958. OMgK. 18270. F — 995/1959.

Простой способ определения содержания каротина в зеленых растениях и сене

Я. ВАЛГЕР и Ж. ТУРАНСКИ

Отдел определения качества кормов Государственного института по контролю качества почв и с/х продукции, Будапешт

Резюме

В последние годы настоятельно встала необходимость разработки быстрого, точного и простого метода определения каротина, пригодного для массовых анализов. На основе данных специальной литературы и собственного опыта нами разработан и рекомендуется следующий метод.

Смесь бензина и петролейного эфира на водной бане с температурой 90—95° С практически полностью извлекает вместе с остальными пигментами и бета-каротин из тонко размолотой сенной муки или растертых с сульфатом натрия и кварцевым песком частей зеленых растений. Подготовленный соответствующим образом из костной муки хроматографический столбик задерживает остальные пигменты и пропускает биологически-активный бета-каротин, количество которого можно определить фотометрическим способом.

Метод быстрый и весьма пригоден для массовых определений. Один человек может произвести за день анализ 24 образцов сенной муки. Разница результатов двух параллельных определений в среднем допускается 0,5 мг%, максимальное отклонение — 1,0 мг %. Стоимость используемых для анализа реактивов составляет 1/10 часть стоимости реактивов необходимых при анализе по методу Гильберта, а извлечение бета-каротина более совершенное.

Авторы не рекомендуют дополнительную сушку образцов сена, в которых хотят определить содержание каротина, перед их размолотом инфракрасными лампами так как лучи, испускаемые ими разрушают каротин. При использовании обычных методов сушки (электрические или газовые сушильные шкафы) также следует быть осмотрительными. Температура в 90° С в течение часа еще не оказывает заметного влияния, но более высокая температура в течение такого же срока, или более низкая, но более продолжительное время уже повреждают каротин.

Табл. 1. Содержание каротина в сенной муке, определенное «старым» и «новым» методами. Данные параллельных определений (мг %) при достоверности в 95%. (1) Номер образца. (2) Старый метод. (3) Новый метод.

Табл. 2. Сравнение вытяжек полученных при 48 час. воздействии растворителя при комнатной температуре и после кипячения в течение 1 часа. Данные параллельных определений (мг %) при достоверности 95%. (1) Номер образца. (2) Без кипячения. (3) После кипячения. (4) Прибавки от кипячения.

Табл. 3. Влияние облучения инфракрасной лампой на содержание каротина в сенной муке мг/100 г каротина. (1) Номер образца. (2) Срок облучения. мин. (3) часов.

Табл. 4. Влияние облучения инфракрасной лампой на содержание каротина в сенной муке в случае перемешивания образцов через каждые 15 мин. (мг/100 г каротина). (1) Номер образца. (2) Часов.

Табл. 5. Влияние различных температур, действовавших на образцы в течение 8 часов, на содержание каротина в сенной муке (мг/100 г каротина). (1) Номер образца.

Табл. 6. Влияние температуры в 90° С в зависимости от срока ее воздействия на содержание каротина в сенной муке (мг/100 г каротина). (1) Номер образца. (2) Минут. (3) Часов.

Табл. 7. Влияние температуры в 70° С в зависимости от срока ее воздействия, на содержание каротина в сенной муке (мг/100 г каротина). (1) Номер образца. (2) Часов

Рис. 1. Чертеж прибора для хроматографирования.

Vereinfachte Methode zur Bestimmung des Karotingehaltes von Grünpflanzen und Heu

J. WALGER und ZS. THURÁNSZKY

Landesanstalt für landwirtschaftliche Qualitätsprüfung, Abteilung für Futtermittelprüfung, Budapest

Zusammenfassung

In den letzteren Jahren wurde immer dringlicher die Anforderung nach einer raschen, exakten und doch einfachen, für Serienprüfungen geeigneten Karotin-Bestimmungsmethode erhoben. Auf die einschlägige Fachliteratur und eigene Erfahrungen gestützt wird nachstehende Methode für diesen Zweck vorgeschlagen.

Mit einem Gemisch von Benzin und Petroläther kann aus feingemahlenem Heumehl bzw. aus den mit Natriumsulfat und Quarzsand verriebenen grünen Pflanzenteilen, in 90—95 °C heissem Wasserbad das Beta-Karotin mitsamt sonstigen Pigmentstoffen gut ausgelöst werden. Durch entsprechend vorbereitete Knochenmehl-Kromatographsäule werden die übrigen Pigmentstoffe abgefangen, das biologisch aktive Beta-Karotin wird dagegen durchgelassen, so dass dessen Menge photometrisch bestimmt werden kann.

Die Methode ist sehr schnell und auch für Serienprüfungen geeignet; bei Heumehl kann eine Arbeitskraft täglich auch 24 Prüfungen durchführen. Bei Parallelprüfungen liegt die durchschnittliche Abweichung bei 0,5 mg %, die maximale Abweichung bei 1,0% mg. Die Kosten der erforderlichen Chemikalien betragen bloss 1/10 im Vergleich zu der bisher üblichen Guilbert-Prüfmethode. Die Ausbeute des Beta-Karotins ist sogar besser, als bei der Guilbert-Methode.

Eine Nachtrocknung der Heuproben vor dem Vermahlen mit Infra-rot-Lampen ist wegen deren karotinförderlicher Wirkung nicht zu empfehlen. Auch bei Einsatz von gewöhnlichen Trockenanlagen (mit elektrischer oder Gas-Heizeinrichtung) ist Vorsicht angebracht. Eine einstündige Trocknung bei 90° C hat noch keine nachweisbare Wirkung; Behandlung mit gleicher Zeitdauer bei höherer Temperatur, oder aber längere Einwirkung wenn auch niedrigerer Temperaturen wirkt sich schon nachteilig auf das Karotin aus.

Tabelle 1. Karotingehalt von Heumehl-Proben, mit „alter“ oder mit „neuer“ Methode bestimmt. Die Werte (mg %) bedeuten das Mittel von Parallelprüfungen, bei 95%-iger Vertrauensgrenze. (1) Nummer der Stichprobe. (2) Mit der alten Prüfmethode (3) mit der neuen Methode bestimmt.

Tabelle 2. Vergleich der 48stündigen kalten und der 1stündigen Kochungs-Extraktion. Die Werte (mg%) bedeuten das Mittel von Parallelprüfungen, bei 95%-iger Vertrauensgrenze. (1) Nummer der Stichprobe. (2) kalt, (3) mit Kochen extrahiert. (4) Unterschied zu Gunsten des Kochverfahrens.

Tabelle 3. Wirkung der Infra-rot-Bestrahlung unterschiedlicher Zeitdauer auf den Karotingehalt des Heumehles, (mg/100 g Karotin). (1) Nummer der Stichprobe. (2) Minuten. (3) Stunden.

Tabelle 4. Wirkung der Infra-rot-Bestrahlung unterschiedlicher Zeitdauer auf den Karotingehalt des Heumehles, bei Umrühren in 15 minütigen Zeitabständen (mg/100 g Karotin). (1) Nummer der Stichprobe. (2) Stunden.

Tabelle 5. Wirkung der achtstündigen Trocknung mit unterschiedlichen Temperaturen auf den Karotigehalt des Heumehles (mg/100 g Karotin). (1) Nummer der Stichprobe.

Tabelle 6. Wirkung der 90° C Temperatur auf den Karotingehalt des Heumehles in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer (mg/100 g Karotin). (1) Nummer der Stichprobe. (2) Minuten. (3) Stunden.

Tabelle 7. Wirkung von 70° C Temperatur auf den Karotingehalt des Heumehles in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer (mg/100 g Karotin). (1) Nummer der Stichprobe. (2) Stunden.

Abb. 1.: Die Chromatographie-Vorrichtung.